

Transfektion

FAX-BESTELLUNG

Geben Sie Ihre Bestellung einfach und bequem per **Fax** auf unter folgender Nummer:
+49 89 32479952

EMAIL-BESTELLUNG

Geben Sie Ihre Bestellung einfach und bequem per **Email** auf unter folgender Adresse:
order@biontex.com

ONLINE-BESTELLUNG

Für die korrekte Darstellung der Preise und Versandkosten ist die Wahl Ihrer Region nötig.

TRANSFECTON REAGENT SELECTION GUIDE

Finden Sie das passende Produkt für Ihre Anwendung [hier](#).

TESTSAMPLES

BIONTEX bietet kostenlose Testsamples an. Bestellen Sie [hier](#).

Tipps & Tricks Transfektion

FAQ Transfektion

Transfection Reagent Selection Guide

Kostenlose Testsamples

Produkte Transfektion

Als Transfektion bezeichnet man in der Zellbiologie das Einbringen von zellfremdem genetischen Material (DNA oder RNA) in eukaryontische Zellen. Hierbei wird zusätzlich zwischen dem zeitweiligen Einbringen in die Wirtszelle (transiente Transfektion) und dem dauerhaften Einbau in das Genom (stabile Transfektion) unterschieden. Der Prozess der Transfektion entspricht im Wesentlichen dem der bakteriellen Transformation, wird jedoch unterschiedlich benannt.

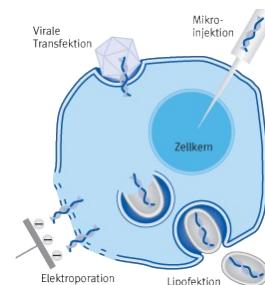
Transfektionsmethoden

Es gibt verschiedene Möglichkeiten, genetisches Material in eukaryontische Zellen einzubringen:

Bei der viralen Transfektion werden gentechnisch veränderte, nicht mehr pathogene Viren verwendet, die das einzubringende Gen in sich tragen. Probleme hierbei sind die häufig ungerichtete, stabile Einbau in das Genom der Wirtszelle, die arbeitsintensive Herstellung der Viren sowie die starke immunologische Antwort.

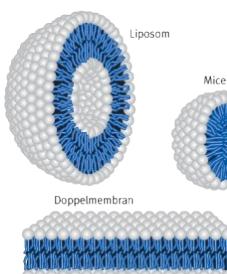
Physikalische Methoden wie z.B. die Elektroporation oder die Mikroinjektion sind kostenintensiv und haben Einschränkungen in der routinemäßigen Anwendung.

Zu den chemischen Methoden gehören die Calcium-Phosphat-Präzipitation, die Transfektion mit kationischen Polymeren und die zu den effizientesten Methoden gehörende Lipofektion auf Basis von kationischen Lipiden. Zu dieser Gruppe gehören auch die Transfektionsreagenzien von Biontex (**DOTAP, METAFECTENE®, METAFECTENE® PRO, METAFECTENE® SI, K2® Transfection System, K4® Transfection System**).



Transfektion mit kationischen Lipiden

Kationische Lipide bilden in wässrigen Lösungen Vesikel mit einer Lipid-Doppelschicht aus – die Liposomen. Wenn Liposomen auf Nukleinsäuren treffen, entstehen durch Umorganisation Nukleinsäure-Lipid-Komplexe, die sogenannten Lipoplexe, die von eukaryontischen Zellen aktiv per Endozytose aufgenommen werden können. Der Lipoplex gelangt dabei über die Endosomen in das Cytosol der Zelle.



Die Zerstörung der endosomalen Struktur erfolgt zum einen durch eine Steigerung des osmotischen Drucks, der aufgrund der puffernden Eigenschaften der Lipide im Inneren der Endosomen erzeugt wird, zum anderen durch eine Fusion des Lipids mit der Endosomenmembran. Die Fähigkeit eines Lipids zur Zerstörung der Endosomen ist eines der wichtigsten Leistungsmerkmale eines effizienten Transfektionsreagenzes.

Transfektion von DNA

DNA, die in das Cytosol eingebracht wurde, kann die Zellkernmembran nicht überwinden („nuclear barrier“). Folglich ist eine Kernfähigigkeit nur möglich, wenn die Zellkernmembran im Laufe der Mitose aufgelöst wird. Daher spielt die Zellteilungsrate bei der Transfektion von DNA eine entscheidende Rolle und muss für das Erreichen von guten Transfektionseffizienzen möglichst hoch sein.

Transfektion von RNA (siRNA/miRNA/mRNA)

Da RNA nicht in den Kern gelangen muss, um die entsprechende biologische Wirkung zu entfalten, entfällt die „nuclear barrier“. Als Folge spielt die Zellteilungsrate keine Rolle.

Lipofektion ist ein komplexer Vorgang, der ein genaues Abstimmen der Lipoplexmenge und des Verhältnisses von genetischem Material zum Transfektionsreagenz, also der Lipoplexzusammensetzung, auf den jeweiligen Zelltyp erfordert.

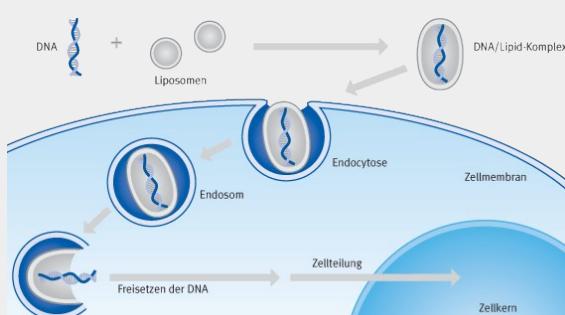
Reagenzien und Methoden zur Transfektion zeigen in Abhängigkeit der Art der verwendeten Nukleinsäure und des Zelltyps unterschiedliche Leistungsprofile. Ob ein Reagenz oder Methode für eine bestimmte Applikation geeignet ist, kann ohne entsprechende Referenz nicht vorhergesagt werden und muss empirisch ermittelt werden. Unser

„Transfection Reagent Selection Guide“ unterstützt Sie bei der Auswahl eines für Ihre Anwendung geeigneten Transfektionsreagenzes. Damit Sie, ohne Kosten auf sich zu nehmen, testen können, ob sich eines unserer Transfektionreagenzien für Ihre Zwecke eignen, bieten wir **kostenlose Testsamples** an.

Transfektionsmechanismus

Der komplexe Prozess der Lipofektion ist bis heute noch nicht vollständig aufgeklärt. Das folgende vereinfachte Schema gibt die allgemein anerkannten Schritte einer Transfektion wieder:

1. Spontane Bildung von transfektionsaktiven Lipoplexen aus kationischen Lipiden und negativ geladenem genetischen Material
2. Aufnahme der Lipoplexe durch Endozytose
3. Freisetzung des genetischen Materials durch Zerstörung (osmotische Effekte und Fusion) der Endosomenmembran
4. Eintritt des genetischen Materials in den Zellkern im Laufe der Mitose (nicht bei RNA)



RNA-Interferenz

Die RNA-Interferenz (RNAi) ist ein natürlicher Regulationsmechanismus für die Genexpression, der durch kurzkettige, zur mRNA eines Zielproteins komplementäre RNA mit ca. 21 – 28 Nukleotiden gesteuert wird und in allen eukaryontischen Zellen zu finden ist.

Man unterscheidet hierbei siRNA und miRNA, die im Falle von siRNA aus doppelsträngiger RNA (z.B. endogen aus Transposons oder exogen von Viren) und bei miRNA aus endogener RNA (aus eigenen pri-miRNA-Genen) mit Haarnadelstruktur durch enzymatische Spaltung mit einer Endoribonuklease (Dicer) gebildet wird.

Im Cytosol werden diese kleinen RNA-Stränge von einem Ribonukleoproteinkomplex – dem RISC-Komplex (RNA induced silencing complex) – gebunden, der RNA-Doppelstrang getrennt und der Leitstrang präsentiert. Bindet ein komplementärer mRNA-Strang, so wird dieser vom RISC-Komplex abgebaut oder stillgelegt und damit die Expression des Zielproteins verhindert – es kommt zu einer Herunterregulierung des zugehörigen Gens (Knockdown).

Die Entdeckung des als „gene silencing“ bezeichneten Mechanismus war einer der größten Meilensteine in der Forschung der letzten Jahre. Er ist ein mächtiges Werkzeug im Gebiet der Proteomics bzw. der Erforschung von Gen-Funktionsbeziehungen.

